

sis[J]. Intensive Care Med, 2010, 36(4):585-599.

[9] Guérin C, Reignier J, Richard JC, et al. Prone positioning in severe acute respiratory distress syndrome[J]. N Engl J Med, 2013, 368(23):2159-2168.

[10] Lee K, Kim MY, Yoo JW, et al. Clinical meaning of early oxygenation improvement in severe acute respiratory distress syndrome under prolonged prone positioning [J]. Korean J Intern Med, 2010, 25(1):58-65.

[11] McAuley DF, Giles S, Fichter H, et al. What is the optimal duration of ventilation in the prone position in acute lung injury and acute respiratory distress syndrome? [J]. Intensive Care Med, 2002, 28(6):414-418.

[12] Gattinoni L, Carlesso E, Taccone P, et al. Prone positioning improves survival in severe ARDS: a pathophysiological review and individual patient meta-analysis[J]. Minerva Anesthesiol, 2010, 76(6):448-454.

[13] Taccone P, Pesenti A, Latini R, et al. Prone positioning in patients with moderate and severe acute respiratory distress syndrome: a randomized controlled trial [J]. JAMA, 2009, 302(18):1977-1984.

[14] Lim CM, Kim EK, Lee JS, et al. Comparison of the response to the prone position between pulmonary and extrapulmonary acute respiratory distress syndrome[J]. Intensive Care Med, 2001, 27(2):477-485.

[15] Sarkar D, Sarkar S, Anand S, et al. Lung protective strategy and prone ventilation resulting in successful outcome in a patient with ARDS due to H1N1[J]. BMJ Case Rep, 2011, 15(20):112-114.

[16] Kim MJ, Hwang HJ, Song HH. A randomized trial on the effects of body positions on lung function with acute respiratory failure patients [J]. Int J Nurs Stud, 2002, 39(5):549-555.

[17] Voggenreiter G, Aufmkolk M, Stiletto RJ, et al. Prone positioning improves oxygenation in post-traumatic lung injury-a prospective randomized trial [J]. J Trauma, 2005, 59(2):333-341.

[18] Dirkes S, Dickinson S, Havey R, et al. Prone positioning: Is it safe and effective[J]. Crit Care Nurs, 2012, 35(1):64-75.

[19] Charron C, Bouferrache K, Caille V, et al. Routine prone positioning in patients with severe ARDS: feasibility and impact on prognosis [J]. Intensive Care Med, 2011, 37(5):785-790.

(收稿日期:2015-07-04 修回日期:2015-09-01)

• 综 述 •

# 急性肾损伤中的自噬

张吟眉 综述, 张捷 审校(北京大学第三医院检验科, 北京 100191)

【关键词】 急性肾损伤; 自噬; 调控机制  
DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2016.02.053 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2016)02-0272-04

急性肾损伤(AKI)是一种以肾脏排泄功能迅速降低为主要特征的综合征。主要表现为肌酐、尿素等含氮废物的积累及水电解质和酸碱失衡<sup>[1]</sup>。AKI的发病因素很多,主要有肾缺血/再灌注、肾毒性药物、脓毒症等。引起AKI的病理因素很复杂,包括感染、血管活性物质的产生及细胞自噬等。肾小管细胞的损伤和死亡是AKI的关键病理特征。自噬是细胞内的溶酶体降解自身细胞器和其他大分子的过程。相对于主要降解短半衰期蛋白质的泛素-蛋白酶体系统,细胞自噬是大多数长半衰期蛋白质和细胞器通过溶酶体降解和再循环的一种方式,对维持细胞内环境的稳态和细胞生存起至关重要的作用。细胞在营养缺乏或发生应激反应时可诱发自噬现象<sup>[2]</sup>,已经有实验证明,在缺血/再灌注损伤、肾毒性药物及脓毒症引发的AKI中,肾小管细胞发生自噬<sup>[3]</sup>,但机制尚不明确,自噬在AKI中的作用也仍在讨论中,本文就这一领域近期研究成果做一综述。

## 1 自噬的概念及生理意义

自噬是一种程序化多步骤细胞内降解机制。细胞通过溶酶体降解自身胞质成分,将胞内组件分解回收,实现细胞自身代谢需要及部分细胞器的更新以维持细胞内环境稳态。当细胞处于营养缺乏的状态时,自噬可以通过降解细胞内耗能的蛋白质及细胞器产生能量供细胞利用。因此,自噬一直被认为是细胞的一种保护性机制,在维持缺血缺氧等应激状态下细胞存活、清除细胞内衰老细胞器及错误折叠蛋白中起重要作用。近

期关于自噬的研究表明,自噬可能与大量疾病的发生有关,如感染、肿瘤、代谢性疾病等<sup>[2]</sup>。近几十年来,自噬一直是研究的热点。

## 2 AKI中肾小管细胞自噬调控的机制

近年来自噬的分子机制和信号传导的研究取得了很大进展。自噬调控涉及很多自噬相关蛋白,自噬相关蛋白作为构成调控自噬功能的核心分子,调控自噬发生的几个连续步骤。在自噬相关蛋白上游有一系列复杂的自噬调控信号网络,通过相互影响来决定自噬的强度和特异性<sup>[4]</sup>。尽管已经取得巨大进展,但AKI中肾小管细胞自噬调控的机制仍不十分明确。

**2.1 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)信号通路** mTOR是一种丝氨酸蛋白激酶,是磷脂酰肌醇-3-激酶类家族的成员,可以作为氨基酸、三磷酸腺苷(ATP)、生长因子等多种物质的感受器调节细胞生长。mTOR在哺乳动物中主要以mTOR复合体1(mTORC1)和mTOR复合体2(mTORC2)两种形式存在,其中mTORC1对雷帕霉素敏感。mTOR对细胞自噬的大多数信号转导通路起负向调控作用。在营养丰富的情况下,mTORC1通过抑制自噬起始分子自噬相关基因(ATG)1活性,实现对自噬的控制。当细胞受到缺血缺氧、能量不足、衰老或破损的细胞器、折叠错误的蛋白质等胞内或胞外信号刺激后,mTORC1作为饥饿感受器可感受细胞的营养状态,并激活一磷酸腺苷(AMP),活化AMP依赖的蛋白激酶(AMPK),使mTOR磷酸化并导致其活性下降。实验证明,营养缺乏或使

用雷帕霉素抑制 mTOR 活性,很可能同时激活某种磷酸酶,导致 Atg13 部分脱磷酸化,使之与 Atg1 紧密结合,这种结合可以使 Atg1 活化,为自噬体的形成奠定基础<sup>[5]</sup>。

**2.2 氧化应激** 近年来大量研究表明氧化应激对 AKI 的发展起到关键作用。Bolisetty 等<sup>[6]</sup>的研究证实了人血红素加氧酶基因 1(HMOX1)在顺铂导致的 AKI 中可以实现对自噬的调控。在 HMOX1 敲除的模型中,氧化应激增加,自噬调控减弱,导致细胞肾小管细胞死亡,而在肾小管细胞中重新加入 HMOX1 可以重启自噬反应;同时,过表达 HMOX1 可以降低氧化应激反应,延迟自噬的诱导,对顺铂导致的细胞死亡具有保护作用。Parajuli 等<sup>[7]</sup>构建了在远端肾小管敲除锰超氧化物歧化酶的小鼠模型,小鼠基因敲除后线粒体氧化作用增加,导致自噬增强。Kasuno 等<sup>[8]</sup>近期的一项研究表明,氧化应激反应的标志物尿硫氧还蛋白(TRX1)在缺血/再灌注导致的 AKI 中会升高。这些结果均表明氧化应激可在肾小管细胞中导致自噬。

**2.3 内质网应激** 内质网功能失调,例如未折叠蛋白累积和钙失衡会导致 AKI 的发生。一项用不同剂量顺铂处理 NRK-52E 细胞的研究表明,低浓度(10  $\mu\text{mol/L}$ )顺铂可以诱导自噬并上调内质网分子伴侣葡萄糖调节蛋白(GRP)78 和 GRP94,但高浓度(50  $\mu\text{mol/L}$ )顺铂会抑制自噬并激活凋亡,并且导致这两种蛋白水平降低。应用抗氧化剂牛磺酸,可以恢复内质网分子伴侣的表达,并且增加自噬反应,降低凋亡<sup>[9]</sup>。在肾小管上皮细胞中,环孢霉素可以诱导内质网应激所致的自噬激活,而内质网应激抑制剂 Salubrinal 可以抑制环孢霉素诱导的自噬<sup>[10]</sup>。对于内质网应激诱导自噬的机制,Kawakami 等<sup>[11]</sup>的研究表明细胞外调解蛋白激酶(ERK)是内质网应激导致肾小管细胞发生自噬的必要条件。Gozuacik 等<sup>[12]</sup>发现,蛋白质磷酸酶 2A 的脱磷酸可以通过内质网应激激活死亡相关蛋白激酶(DAPK)导致自噬,而 DAPK 敲除的细胞自噬被抑制。以上研究表明 ERK 和 DAPK 可以对内质网应激中的自噬进行调控,但具体机制还需进一步研究。

**2.4 缺氧诱导因子-1 $\alpha$ (HIF-1 $\alpha$ )及其转录目标促凋亡线粒体蛋白(BNIP3)** An 等<sup>[13]</sup>的研究证明了乙酰唑胺(AZA)可以通过激活 PI3K/Akt 信号传导通路上调 HIF-1 $\alpha$  诱导自噬对缺血/再灌注引发的 AKI 起到保护作用。HIF 基因敲除小鼠的胚胎成纤维细胞(MEF)缺氧实验证实了 HIF-1 $\alpha$  及其转录目标 BNIP3 对自噬具有调控作用,HIF-1 $\alpha$  在肾小管细胞在缺氧数小时后产生,同时产生自噬<sup>[14]</sup>。Livingston 等<sup>[4]</sup>的实验表明,在 HIF-1 $\alpha$  敲除的小鼠中,由缺氧诱导的自噬降低。一项大鼠近端小管 NRK-52E 细胞实验表明缺氧会诱导 BNIP3 的产生,NRK-52E 细胞中过表达的 BNIP3 生成的自噬小体主要局限于线粒体中,而敲除 BNIP3 可以显著降低缺氧导致的自噬和线粒体自噬<sup>[15]</sup>。这些实验结果提示 HIF-1 $\alpha$  和 BNIP3 可以激活肾小管细胞的自噬产生。

**2.5 肿瘤抑制基因 p53** p53 可以通过激活 AMPK 抑制哺乳动物的 mTORC1 诱导自噬产生<sup>[16]</sup>,也可以通过激活损伤相关自噬调控基因(DRAM)诱导自噬<sup>[17]</sup>。为了应对 DNA 损伤,p53 还可以通过上调 unc-51 样激酶(ULK1)以维持自噬<sup>[18]</sup>。在顺铂处理的肾小管细胞中,p53 的抑制剂可以部分抑制自噬,也证明了 p53 在这个模型中可以上调自噬<sup>[19]</sup>。另一方面,p53 可以通过 TP-53 所诱发的糖酵解和细胞凋亡抑制氧化应激,通过 mTOR 途径抑制自噬<sup>[20]</sup>。总之,p53 对的自噬的调节具有双向性,具体机制有待进一步研究。

**2.6 ULK1** ULK1 是一个处于自噬调节机制核心的启动激酶,在肾小管细胞的缺氧及器官的缺血/再灌注反应中被激活,

而在 ULK1 敲除的缺血性 AKI 模型中,肾小管细胞的自噬会被抑制。在饥饿条件下,ULK1 通过募集 ATG 蛋白调控自噬体前体的结构并磷酸化下游基质<sup>[21]</sup>。ULK1 还通过磷酸化 AMBRA1 和 Beclin-1 激活Ⅲ类 PtdIns3K 诱导自噬<sup>[22]</sup>。Gam-moh 等<sup>[23]</sup>的研究进一步证实 FIP200 和 ATG16L1 之间的相互作用是 ULK1 和 ATG5 复合体组成的必要条件。此外,ULK1 还参与了 mTORC1 和 AMPK 对自噬的反馈调控<sup>[24]</sup>。尽管有以上研究进展,ULK1 调控自噬的很多机制仍不明确。

**2.7 B 淋巴细胞瘤-2 基因(Bcl-2)家族蛋白** Bcl-2 家族蛋白对肾小管细胞自噬的抑制作用已经在许多实验中被证实。Isaka 等<sup>[25]</sup>证实对 Bcl-2/GFP-LC3 转基因小鼠进行缺血/再灌注实验后自噬减弱。此外,在 Bcl-2 稳定表达的肾小管细胞系中,顺铂导致的自噬几乎被完全阻滞。对于 Bcl-2 下调自噬的机制,一个公认的解释是 Bcl-2 通过 Bcl-2 的同源物 BH3 与 Beclin-1 结合,防止了 Beclin-1 与 class Ⅲ PtdIns3K 复合体装配,阻断了自噬体形成的必要过程。但在 Bcl-2 过表达的肾小管细胞中,免疫共沉淀分析不能检测出 Bcl-2 和 Beclin-1 的相互作用。近期 Chang 等<sup>[26]</sup>的研究表明,在内质网上营养缺乏自噬因子 1 可以与 Bcl-2 结合,并且这是 Bcl-2 与 Beclin-1 相互结合及 Bcl-2 抑制的自噬的必要条件。此外,Bcl-2 也可以通过减少应激诱导的  $\text{Ca}^{2+}$  释放实现对自噬的抑制。

### 3 自噬在 AKI 的作用

对于自噬在 AKI 中是起保护细胞的作用还是加重细胞损伤一直有争议。迄今为止,大部分研究支持自噬对 AKI 起到了保护作用,但仍有一些研究认为自噬会在 AKI 中导致细胞死亡<sup>[27]</sup>。

**3.1 自噬对 AKI 的保护作用** 为验证肾缺血/再灌注中自噬对肾损伤的作用,Liu 等<sup>[28]</sup>建立了一个小鼠肾小管特异 Atg5 敲除实验模型,结果表明基因敲除小鼠比野生小鼠产生了更严重的肾损伤。而在一个小鼠近端小管 Atg7 基因敲除的实验中,近端小管 Atg7 基因敲除小鼠表现为肾功能下降加速,严重肾组织损伤及肾小管细胞凋亡。从近端小管 Atg7 基因敲除的小鼠中分离的近端小管细胞与野生型小鼠分离的细胞相比,对缺血再灌注损伤也更敏感<sup>[3]</sup>。对于肾毒性药物导致的肾损伤,Periyasamy-Thandavan 等<sup>[19]</sup>的一项实验证明,用顺铂处理的肾小管上皮细胞细胞无论通过应用自噬抑制剂(3-MA 或巴伐洛霉素 A1)还是基因敲除 Becn1,或用小干扰 RNA(siRNA)下调 Atg5 抑制自噬,均导致细胞凋亡增加,表明自噬对顺铂诱导的肾小管细胞损伤具有保护作用。此外,Yang 等<sup>[29]</sup>研究发现顺铂诱导的自噬对细胞凋亡有抑制作用。在一组顺铂导致小鼠肾损伤的模型中证实,自噬抑制剂氯喹增强了顺铂导致的肾损伤,而自噬激活剂雷帕霉素则起到了保护作用。在脓毒症造成的 AKI 模型中,一项大鼠的盲肠结扎和穿刺手术实验的报道提示大鼠早期自噬反应的下降的幅度与其后期脓毒症所导致的肾损伤的幅度相关联,提示自噬在脓毒症造成的 AKI 仍然起到保护作用<sup>[30]</sup>。上述实验证明,自噬无论对于缺血/再灌注,肾毒性药物还是脓毒症引起的 AKI 都起到了保护作用。

现在对于自噬在 AKI 中保护肾小管细胞的机制尚不明确。Levine 等<sup>[31]</sup>的研究提示,在应激条件下,氧气和营养物质不足,此时通过异化的途径可以使氨基酸和脂质合成蛋白质和 ATP 产物满足机体生存需要。此外,自噬可以清除错误折叠蛋白和损伤的细胞器维持细胞稳态,从而提高诱导凋亡的阈值<sup>[4]</sup>。此外,特定的应激可以激活其他细胞保护性应答以联合自噬达到最优的细胞修复和适应的状态<sup>[32]</sup>。最后,一些关于程序性细胞死亡的研究表明,自噬的作用是维持高 ATP 从而

促进凋亡细胞的清除,这个功能可以防止病理刺激下有害的炎症反应对细胞的损伤<sup>[31]</sup>。

**3.2 自噬在 AKI 中可能促进细胞死亡** 另有一些研究则提示 AKI 中肾小管细胞自噬可能导致细胞死亡。Wu 等<sup>[33]</sup> 在一项肾缺血/再灌注的大鼠实验模型中表明在损伤的肾小管中 Beclin-1 和 LC3 的表达增加,凋亡增强,而在缺血的过程中,如果 Bcl-2 过表达,自噬和凋亡都会降低,肾损伤情况有所改善。Suzuki 等<sup>[34]</sup> 报道,对 GFP-LC3 转基因小鼠进行缺血/再灌注处理,伴随着自噬的发生,肾小管出现形态学破坏;而对于 Bcl-2/GFP-LC3 双转基因小鼠,则由于自噬降低,肾小管破坏减轻。在体外实验中,自噬抑制剂可以保护过氧化氢导致的 HK-2 细胞死亡,由此推断自噬可能在缺血/再灌注过程中对肾小管造成损伤。有实验表明,对于用衣霉素处理的小鼠,内质网压力导致的凋亡和自噬同时对肾小管细胞造成损伤,单纯的抑制自噬并不会对细胞起到保护或死亡的效果,但如果同时阻断含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶(caspase),对自噬的抑制就可以提高细胞的生存率。此外,DAPI 基因敲除的小鼠因为自噬降低可以抵抗内质网压力所导致的肾损伤,提示自噬可能通过和凋亡的共同作用通过内质网应激产生双相细胞杀伤机制,引发肾损伤<sup>[12]</sup>。自噬承担了促进细胞死亡的角色,无论是药物阻断还是基因敲除自噬实验均可以减低 NRK-52E 细胞中顺铂导致的 caspase 激活以及细胞凋亡的发生<sup>[35]</sup>。

自噬从对细胞起保护作用到促细胞死亡的转换机制尚不明确,这可能是由于细胞内容物非特异性的大量破坏,或细胞保护因子的选择性降解导致细胞活力的不可逆损伤所造成的。此外,自噬可能引发了凋亡。自噬功能和凋亡的关系是复杂的,通常表现为以下 3 种情况:首先,这两个通路共用调节信号并调节和修饰对方的活性。其次,自噬既可以使调控细胞凋亡上游的信号转导中断,也可在细胞凋亡最后阶段通过提供 ATP 参与某些形态改变。第三,在一定条件下,自噬和凋亡以互斥的方式共同发展,可能在不同的阈值下一方受到对方抑制,或双方之间的相互抑制<sup>[6]</sup>。

#### 4 总结与展望

综上所述,多数药物实验和基因敲除实验提示自噬对 AKI 具有保护作用,但自噬在 AKI 中的作用及机制尚有争议。随着对自噬进一步的研究,作者对 AKI 中小管细胞自噬的诱导的机制及信号调控必将有更深入的了解,从而更加明确自噬在 AKI 中的功能和作用。对肾小管细胞自噬调控的全面的理解必将为 AKI 的治疗和预防提供依据和方向。

#### 参考文献

- [1] Bellomo R, Kellum JA, Ronco C. Acute kidney injury[J]. Lancet, 2012, 380(9843): 756-766.
- [2] Parzych KR, Klionsky DJ. An overview of autophagy; morphology, mechanism, and regulation[J]. Antioxid Redox Signal, 2014, 20(3): 460-473.
- [3] Jiang M, Wei Q, Dong G, et al. Autophagy in proximal tubules protects against acute kidney injury[J]. Kidney Int, 2012, 82(12): 1271-1283.
- [4] Livingston MJ, Dong Z. Autophagy in acute kidney injury[J]. Semin Nephrol, 2014, 34(1): 17-26.
- [5] Kamada Y, Yoshino K, Kondo C, et al. Tor directly controls the Atg1 kinase complex to regulate autophagy[J]. Mol Cell Biol, 2010, 30(4): 1049-1058.
- [6] Bolisetty S, Traylor AM, Kim J, et al. Heme oxygenase-1 inhibits renal tubular macroautophagy in acute kidney in-

- jury[J]. J Am Soc Nephrol, 2010, 21(10): 1702-1712.
- [7] Parajuli N, MacMillan-Crow LA. Role of reduced manganese superoxide dismutase in ischemia-reperfusion injury: a possible trigger for autophagy and mitochondrial biogenesis? [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2013, 304(3): 257-267.
- [8] Kasuno K, Shirakawa K, Yoshida H, et al. Renal redox dysregulation in AKI: application for oxidative stress marker of AKI[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2014, 307(12): 1342-1351.
- [9] Rovetta F, Stacchiotti A, Consiglio A, et al. ER signaling regulation drives the switch between autophagy and apoptosis in NRK-52E cells exposed to cisplatin[J]. Exp Cell Res, 2012, 318(3): 238-250.
- [10] Pallet N, Bouvier N, Legendre C, et al. Autophagy protects renal tubular cells against cyclosporine toxicity[J]. Autophagy, 2008, 4(6): 783-791.
- [11] Kawakami T, Inagi R, Takano H, et al. Endoplasmic reticulum stress induces autophagy in renal proximal tubular cells[J]. Nephrol Dial Transplant, 2009, 24(9): 2665-2672.
- [12] Gozuacik D, Bialik S, Raveh T, et al. DAP-kinase is a mediator of endoplasmic reticulum stress-induced caspase activation and autophagic cell death[J]. Cell Death Differ, 2008, 15(12): 1875-1886.
- [13] An Y, Zhang JZ, Han J, et al. Hypoxia-inducible factor-1alpha dependent pathways mediate the renoprotective role of acetazolamide against renal ischemia-reperfusion injury[J]. Cell Physiol Biochem, 2013, 32(5): 1151-1166.
- [14] Zhang H, Bosch-Marce M, Shimoda LA, et al. Mitochondrial autophagy is an HIF-1-dependent adaptive metabolic response to hypoxia[J]. J Biol Chem, 2008, 283(16): 10892-10903.
- [15] Ishihara M, Urushido M, Hamada K, et al. Sestrin2 and BNIP3 regulate autophagy and mitophagy in renal tubular cells in acute kidney injury[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2013, 305(4): 495-509.
- [16] Xie SB, He XX, Yao SK. Matrine-induced autophagy regulated by p53 through AMP-activated protein kinase in human hepatoma cells[J]. Int J Oncol, 2015, 47(2): 517-526.
- [17] Lorin S, Pierron G, Ryan KM, et al. Evidence for the interplay between JNK and p53-DRAM signalling pathways in the regulation of autophagy[J]. Autophagy, 2010, 6(1): 153-154.
- [18] Gao W, Shen Z, Shang L, et al. Upregulation of human autophagy-initiation kinase ULK1 by tumor suppressor p53 contributes to DNA-damage-induced cell death[J]. Cell Death Differ, 2011, 18(10): 1598-1607.
- [19] Periyasamy-Thandavan S, Jiang M, Wei Q, et al. Autophagy is cytoprotective during cisplatin injury of renal proximal tubular cells[J]. Kidney Int, 2008, 74(5): 631-640.
- [20] Bensaad K, Cheung EC, Vousden KH. Modulation of intracellular ROS levels by TIGAR controls autophagy[J]. EMBO J, 2009, 28(19): 3015-3026.
- [21] Mizushima N. The role of the Atg1/ULK1 complex in au-

- tophagy regulation[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2010, 22(2): 132-139.
- [22] Di Bartolomeo S, Corazzari M, Nazio F, et al. The dynamic interaction of AMBRA1 with the dynein motor complex regulates mammalian autophagy[J]. *J Cell Biol*, 2010, 191(1): 155-168.
- [23] Gammoh N, Florey O, Overholtzer M, et al. Interaction between FIP200 and ATG16L1 distinguishes ULK1 complex-dependent and independent autophagy [J]. *Nat StrucMol Biol*, 2013, 20(2): 144-149.
- [24] Alers S, Löffler AS, Wesselborg S, et al. Role of AMPK mTOR-Ulk1/2 in the regulation of autophagy: cross talk, shortcuts, and feedbacks[J]. *Mol Cell Biol*, 2012, 32(1): 2-11.
- [25] Isaka Y, Suzuki C, Abe T, et al. Bcl-2 protects tubular epithelial cells from ischemia/reperfusion injury by dual mechanisms[J]. *Transplant Proc*, 2009, 41(1): 52-54.
- [26] Chang NC, Nguyen M, Germain M, et al. Antagonism of Beclin 1-dependent autophagy by Bcl-2 at the endoplasmic reticulum requires NAF-1[J]. *EMBO J*, 2010, 29(3): 606-618.
- [27] Shen HM, Codogno P. Autophagic cell death: loch ness monster or endangered species? [J]. *Autophagy*, 2011, 7(5): 457-465.
- [28] Liu S, Hartleben B, Kretz O, et al. Autophagy plays a critical role in kidney tubule maintenance, aging and ischemia-reperfusion injury [J]. *Autophagy*, 2012, 8(5): 826-837.
- [29] Yang C, Kaushal V, Shah SV, et al. Autophagy is associated with apoptosis in cisplatin injury to renal tubular epithelial cells[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2008, 294(4): 777-787.
- [30] Hsiao HW, Tsai KL, Wang LF, et al. The decline of autophagy contributes to proximal tubular dysfunction during sepsis[J]. *Shock*, 2012, 37(3): 289-296.
- [31] Levine B, Kroemer G. Autophagy in the pathogenesis of disease[J]. *Cell*, 2008, 132(1): 27-42.
- [32] Kroemer G, Marino G, Levine B. Autophagy and the integrated stress response[J]. *Mol Cell*, 2010, 40(2): 280-293.
- [33] Wu HH, Hsiao TY, Chien CT, et al. Ischemic conditioning by short periods of reperfusion attenuates renal ischemia/reperfusion induced apoptosis and autophagy in the rat[J]. *J Biomed Sci*, 2009, 16(1): 19.
- [34] Suzuki C, Isaka Y, Takabatake Y, et al. Participation of autophagy in renal ischemia/reperfusion injury[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 368(1): 100-106.
- [35] Inoue K, Kuwana H, Shimamura Y, et al. Cisplatin-induced macroautophagy occurs prior to apoptosis in proximal tubules in vivo[J]. *Clin Exp Nephrol*, 2010, 14(2): 112-122.

(收稿日期: 2015-07-30 修回日期: 2015-09-25)

(上接第 267 页)

脲原体含有脲酶, 将标本接种于含尿素和酚红指示剂的液体培养基中, 24~48 h 后如有解脲脲原体生长, 因其脲酶分解尿素产生氨, 使培养基 pH 值升高, 培养液由黄色变为粉红色或桃红色, 虽然培养基中加入了青霉素、醋酸铊等抗菌药物破坏细菌的细胞壁防止杂菌生长, 但不能抑制革兰阴性菌增殖, 并且当前微生物对抗菌药物的抗药性越来越强, 很有可能造成假阳性结果<sup>[1]</sup>。与 RT-PCR 相比, 本研究显示液体培养法的假阳性率达 17.8%, 与胡宏波等<sup>[8]</sup>报道一致。

IDT 为应用斑点反应板上的固相解脲脲原体抗体特异性与标本中的解脲脲原体抗原(Ag)结合形成复合物, 然后滴加胶体金标记的 IgG 抗体再与复合物结合, 加洗涤液洗涤后, 阳性者即在膜中央形成肉眼可见的红色圆斑(胶体金聚集)。具有操作简便、快捷及操作人员不需技术培训, 无需特殊仪器设备, 结果判断直观, 试剂稳定、便于保存等优点, 其缺点为敏感性低, 如标本中解脲脲原体水平低, 可致假阴性而漏诊。本文将其与液体培养法相结合, 对培养阳性(培养基变红)的标本加做 IDT 检测, 虽增加检测成本但结果显示与 RT-PCR 法差异无统计学意义( $P>0.05$ ), 兼具液体培养法和 IDT 的优点并克服各自不足, 操作简便、条件要求低, 尤其适合基层医院或专科医院推广使用。

## 参考文献

- [1] 朱海勇. 455 例泌尿生殖道感染者支原体检测与药敏分析[J]. *现代医院*, 2010, 10(12): 15-16.
- [2] Taylor-Robinson D. Nongonococcal urethritis and antibiotic-resistant mycoplasma genitalium infection[J]. *Clin*

*Infect Dis*, 2008, 47(12): 1554-1555.

- [3] 刘辉, 赵玉玲. 微生物学检验技术[M]. 北京: 人民军医出版社, 2012: 170.
- [4] 周良佳, 连大帅, 许锴, 等. 现有液体培养法检测解脲脲原体效果的评价[J]. *中国人兽共患病学报*, 2015, 31(1): 16-20.
- [5] 李林海, 陈丽丹, 刘文婷, 等. 实时荧光核酸恒温扩增技术和液体培养法检测解脲脲原体的比较[J]. *生物技术通讯*, 2013, 24(2): 251-253.
- [6] 陈永国, 朱威. 泌尿生殖道解脲脲原体检测方法比较及抗菌药物耐药性分析[J/CD]. *中华临床医师杂志: 电子版*, 2011, 5(15): 4502-4504.
- [7] 何蓉, 甘建玲. 免疫荧光法检测解脲支原体的方法建立及临床效果观察[J]. *现代诊断与治疗*, 2014, 25(10): 2282-2283.
- [8] 胡宏波, 冯金, 李晓明. 男性生殖道解脲脲原体检测方法比较[J]. *广西中医学院学报*, 2009, 12(1): 27-29.
- [9] 李玲群. 解脲脲原体的病原学检测方法分析比较[J]. *中国卫生产业*, 2013, 15(13): 174-176.
- [10] 王建华, 王卫国, 钱亚东, 等. 初培养结合 PCR 检测精液解脲脲原体感染的临床应用[J]. *实验与检验医学*, 2012, 30(4): 361-363.
- [11] 王紫燕, 张永乐, 周强. 生殖道解脲支原体检测方法的比较及应用[J]. *大家健康*, 2014, 8(19): 166-167.

(收稿日期: 2015-03-02 修回日期: 2015-09-10)